

**PATENT ABSTRACTS OF JAPAN**(11)Publication number : **02-149336**(43)Date of publication of application : **07.06.1990**

(51)Int.Cl.

**B01J 13/02****A61K 7/00****A61K 9/127**(21)Application number : **01-169742**(71)Applicant : **CENTRE NATL RECH SCIENT  
<CNRS>**(22)Date of filing : **30.06.1989**(72)Inventor : **STAINMESSE SERGE  
FESSI HATEM  
DEVISSAGUET JEAN-PHILLPPE  
PUISIEUX FRANCIS**

(30)Priority

Priority number : **88 8808874** Priority date : **30.06.1988** Priority country : **FR****(54) PREPARATION OF DISPERSIBLE COLLOIDAL SYSTEM OF AMPHIPHILIC LIPID IN FORM OF SUBMICRON-SIZE LIPOSOME**

(57)Abstract:

**PURPOSE:** To easily obtain submicron-size liposomes by preparing a first liquid phase containing an inner substance in a solvent in which amphiphilic lipids and a wall substance are dissolved, preparing another second liquid phase of water or an aq. soln. of the inner substance, and then mixing them.

**CONSTITUTION:** Submicron-size liposomes having a wall comprising a substance A of amphiphilic lipids and optionally cholesterol, stearylamine or the like, and having the inner substance comprising a water containing a substance B such as pharmaceutically active components or pharmaceutical precursors as desired is prepared. In this method, a first liquid phase is prepared by incorporating the substance B to an ethanol solvent containing amphiphilic lipids such as lecithin and optionally the substance A. Further, a second liquid phase comprising water and an aq. soln. of the substance B is prepared. The first liquid phase is added to the second liquid phase while properly stirring, and if necessary, the solvent and water are removed. Thus, the submicron-size liposomes can be easily and directly prepared.

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 平2-149336

⑬ Int.Cl.<sup>5</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成2年(1990)6月7日

B 01 J 13/02  
A 61 K 7/00

T

7306-4C  
8317-4G

B 01 J 13/02

Z※

審査請求 未請求 請求項の数 10 (全4頁)

⑮ 発明の名称 サブミクロン大リボソームの形態の両親媒性脂質の分散性コロイド系の調製方法

⑯ 特 願 平1-169742

⑰ 出 願 平1(1989)6月30日

優先権主張 ⑱ 1988年6月30日 ⑲ フランス(FR) ⑳ 88 08874

㉑ 発 明 者 サージ・ステナムス フランス国94600シヨワス・ル・ロワ, リュ・スピノズ・8

㉒ 出 願 人 センター・ナシヨナル・ド・ラ・リセルシエ・シエンティフィク  
(シー・エヌ・アル・エス)  
フランス国75007パリ, ケ・アナトール・フラーンス・15

㉓ 代 理 人 弁理士 古 谷 肇 外2名  
最終頁に続く

明 細 書

1. 発明の名称

サブミクロン大リボソームの形態の両親媒性脂質の分散性コロイド系の調製方法

2. 特許請求の範囲

- 1 望が両親媒性脂質及び随意に物質Aによって構成されており、内側が水又は随意に物質Bを含む水溶液によって構成されている、サブミクロン大の少数層リボソームの形態の両親媒性脂質の分散性コロイド系の調製方法であって:

(1)本質的に溶液又は溶液混合物中における前記脂質及び随意に物質Aの溶液からなり、溶液中に物質Bを含みうる第一の液相を調製し、(2)本質的に水又は物質Bの水溶液からなる第二の液相を調製し、(3)リボソームのコロイド懸濁液を形成すべく適度に攪拌しながら第一の液相を第二の液相に添加し、(4)所望の濃度のリボソームのコロイド懸濁液を形成すべく所望に応じて溶液又は溶液混合物及び水の全

部又は一部を除去することからなる方法。

- 2 両親媒性脂質はリン脂質である、請求項1記載の方法。  
3 前記溶液はすべての割合において水と親和性のアルコールである、請求項1又は2記載の方法。  
4 アルコールはエタノールである、請求項1から3の一つに記載の方法。  
5 溶液における脂質の濃度は0.1 から10重量%である、請求項1から4の何れか一つに記載の方法。  
6 溶液における脂質の濃度は1から5重量%である、請求項5記載の方法。  
7 第一の液相の溶液の容積は第二の水相の容積の5から100 %からなる、請求項1から6の何れか一つに記載の方法。  
8 物質Aがコレステロールである、請求項1から7の何れか一つに記載の方法。  
9 物質Bが水溶性の薬剤である、請求項1から7の何れか一つに記載の方法。

10 リボソームは約100 から300 nmの大きさを有する、請求項1から9の何れか一つに記載の方法。

### 3. 発明の詳細な説明

#### (産業上の利用分野)

本発明はサブミクロン大つまりナノメートル単位の如く極微細な、少数層(oligolamellar)リボソームの形態の両親媒性脂質の分散性コロイド系の調製方法に関し、医薬品や化粧品品の製造に関して有用なものである。

#### (従来の技術)

特に薬剤、蛋白、酵素、診断試薬、或いは化粧品などの生物学的に活性な物質のビヒクルとしてのリボソームの調製及び使用について記述している報告は、これまでに数多く知られている。しかして水溶性の物質はリボソームの水性の領域に封入することができ、また親油性の物質は脂質からなる壁の中に取り込むことができる。

少数層小胞系(oligolamellar vesicular sys-

tem)の調製方法は、既にバンハム氏(Bangham)らによって記述されている(J. Mol. Biol. 13, 238-252; 1965)。この手順に従えば、脂質及び親油性の物質は有機溶媒に溶解され、そして激しく攪拌しながら水性相で処理される。しかしながらこの方法は、この方法から導かれる殆どの公知の方法と同様に、マイクロメートルより小さい粒子径のリボソームを直接に得ることを可能ならしめるものではない。だがかかる小さい粒子径は、粒子の安定性及び粒子の分散性を大いに高めることに結びつくものである。

#### (発明の解決しようとする課題)

そこで本発明の課題は、広範囲にわたって適用可能な、サブミクロン大のリボソームを調製するための簡単な方法を提供しようとするものである。

#### (課題を解決するための手段)

本発明は壁が両親媒性脂質及び随意に物質Aによって構成されており、内側が随意に物質Bを含む水又は水溶液によって構成されている、

3

サブミクロン大の少数層リボソームの形態の両親媒性脂質の分散性コロイド系の調製方法であって：

(1)本質的に溶媒又は溶媒混合物中における両親媒性脂質及び随意に物質Aの溶液からなり、溶液中に物質Bを含む第一の液相を調製し、(2)本質的に水又は物質Bの水溶液からなる第二の液相を調製し、(3)リボソームのコロイド懸濁液を形成すべく適度に攪拌しながら第一の液相を第二の液相に添加し、(4)所望の濃度のリボソームのコロイド懸濁液を形成すべく所望に応じて溶媒又は溶媒混合物及び水の全部又は一部を除去することからなる方法を提供している。

親油性の性質を有する物質Aは、壁の物理的(電荷、剛性)又は化学的性質を修正することを意図するものである。これはコレステロール、ステアリルアミン、ホスファチジン酸、α-トコフェロール、ノニオン性界面活性剤その他でありうる。

物質Bは生物学的に活性な物質であり、特に

4

薬物性活性成分又は薬物性先駆体、生物学的試薬又は化粧品類である。物質Bは親油性である場合には上記(1)の相へ、親水性である場合には上記(2)の相へと導入される。

両親媒性脂質は糖脂質、リンアミノ脂質、及び特に例えばレシチン(卵白、大豆、その他)といったリン脂質である。

溶媒は好ましくはすべての割合で水と混和性を有するアルコール、特にエタノールである。

溶媒中における脂質の濃度は0.1 から10重量%、好ましくは1から5重量%である。

小径の(特に100 から300 nmの)リボソームが形成されるためには、上記(1)の相に使用される溶媒の容積が上記(2)の水の容積の5から100%、例えば約50%からなることが有利である。

かくして本発明は、薬剤を特に注射可能な形で得ること、及び非常に安定な化粧品製品を得ることを可能ならしめている。

#### (実施例)

以下の実施例は本発明の具体例を示すもので

5

6

ある。

#### 実施例 1: リボソームの調製

##### 有機相 1

大豆レシチン (Epikuron 170) 2.0 g

無水エタノール 50.0 g

##### 水性相 2

水 100.0 g

磁気攪拌器で攪拌しながら、有機相 1 を水性相 2 に加えた。リボソームが生成した結果として、この混合物は直ちに乳白色となった。調製後すぐにレーザー光線屈折装置 (Coultronics 社の N450sizer<sup>®</sup>) で測定したリボソームの平均径は 180 nm であり、平均分散指数は 0.5 であった。

減圧下にアルコールを除去し、リボソーム懸濁液をガラスフリット (孔径 9-15 μm) を通して濾過した。

濾液について再び測定したところ、リボソームの大きさは変わらなかった。

透過電子顕微鏡によって調べたところ、一様

な大きさの少数層リボソームが観察された。

#### 実施例 2: コレステロールを含有するリボソームの調製 (実施例 1 の変形)

調製方法は、アルコール相に 0.03 g のコレステロールが添加される点を除き、実施例 1 におけるものと同様であった。得られたリボソームは、実施例 1 のリボソームと同じ特性を有していた。

#### 実施例 3: 実施例 1 の変形

調製方法は、大豆レシチンを卵白レシチンによって代替した点を除き、実施例 1 におけるものと同様であった。得られたリボソームは、実施例 1 のリボソームと同じ特性を有していた。

#### 実施例 4: 実施例 2 の変形

調製方法は、大豆レシチンを卵白レシチンによって代替した点を除き、実施例 2 におけるものと同様であった。得られたリボソームは、実施例 1 のリボソームと同じ特性を有していた。

#### 実施例 5: 水溶性活性成分を含有するリボソームの調製

7

調製方法は、0.20 g のアンピシリン (ナトリウム塩) を水性相に添加した点を除き、実施例 2 におけるものと同様であった。セファデックス (Pharmacia 社のデキストランの商品名) のゲルを用いたクロマトグラフィーによってリボソームを水性相から分離した後に測定したところ、リボソーム中におけるアンピシリンの取り込み率は 10% であった。

#### 実施例 6: 親油性活性成分を含有するリボソームの調製

調製方法は、66.7 mg のムラミルトリペプチド-コレステロールを有機相に添加した点を除き、実施例 1 におけるものと同様であった。活性成分の取り込み率は 100 % であった。

#### (発明の効果)

以上述べたように本発明によれば、サブミクロン大のリボソームを直接的に調製するための簡便な方法が提供される。またこのリボソームの型に親油性成分を、内部に親水性成分を取り込むことも同時に示された。このような方法は

8

医薬品や化粧品類の製造にあたって非常に有用である。

出願人代理人	古 谷 馨
同	清 部 孝 彦
同	古 谷 聡

9

10

第1頁の続き

⑥Int. Cl. 7	識別記号	庁内整理番号
A 61 K 9/127	C	7624-4C
⑫発 明 者	ハ テ ム ・ フ エ シ	フランス国75007パリ, リュ・フリアン・9
⑫発 明 者	ジャン・フィリップ・ ドヴィサゲ	フランス国92200ヌイイー・シュル・セーヌ, ブルヴァー ル・ディンカーマン・14
⑫発 明 者	フランシス・ブユイソ ー	フランス国94700メゾン・アルフォー, リュ・ド・ストラ スプール・66

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number: H05-506397

(43)Date of publication of application: 22.09.1993

(21)Application number: H03-503964

(22)Date of application: 11.02.1991

(54)Title: AQUEOUS PHOSPHOLIPID VESICLE DISPERSION, PROCESS FOR ITS MANUFACTURE AND USE THEREOF

(57)Abstract

Aqueous phospholipid dispersion, whose membranes are formed from a mixture of phosphatidylcholine and a specific phospholipid basic substance, provide a particularly favourable loading of the vesicle membrane with lipophilic substances. The vesicle dispersions prepared according to a particular method can be used for pharmaceutical and cosmetic compositions.